

DERWENT-ACC-NO: 1990-061590

DERWENT-WEEK: 199009

COPYRIGHT 1999 DERWENT INFORMATION LTD

TITLE: Gamma-amino-butyric acid
analysis - comprises using liq.
chromatography column of
silica gel support and aq. soln.
of sodium octane-sulphonate

PRIORITY-DATA: 1988JP-0163640 (June 30, 1988)

PATENT-FAMILY:

PUB-NO	PUB-DATE	
LANGUAGE	PAGES	MAIN-IPC
JP 02012059 A		January 17, 1990
N/A	003	N/A

INT-CL (IPC): G01N030/88

ABSTRACTED-PUB-NO: JP 02012059A

BASIC-ABSTRACT:

Analysis of gamma-aminobutyric acid by liq. chromatography comprises using column comprising silica gel support chemically bonded with hydrocarbon as stationary phase and using aq. soln. comprising sodium octanesulphonate of 5-20 mmol/l in a phosphate buffer of 5-20 mmol/l (pH 4-5) as mobile phase.

USE/ADVANTAGE - Method shortens analytical time of gamma-aminobutyric acid.

In an example, an aq. soln. comprising 10 mM sodium octanesulphonate in 20 mM sodium phosphate buffer (pH 4.5) was charged into mobile liq. container.

Column (I

⑪ 公開特許公報 (A) 平2-12059

⑫ Int. Cl. 5

G 01 N 30/88
30/26

識別記号

庁内整理番号

F 7621-2G
A 7621-2G

⑬ 公開 平成2年(1990)1月17日

審査請求 未請求 請求項の数 1 (全3頁)

⑭ 発明の名称 ギーアミノ酪酸分析法

⑮ 特 願 昭63-163640

⑯ 出 願 昭63(1988)6月30日

⑰ 発明者 村北 宏之 東京都調布市柴崎1丁目63-1 株式会社島津製作所東京
分析センター内

⑱ 出願人 株式会社島津製作所 京都府京都市中京区西ノ京桑原町1番地

⑲ 代理人 弁理士 武石 靖彦

明細書

1. 発明の名称

ギーアミノ酪酸分析法

2. 特許請求の範囲

シリカゲル担体に官能基として炭化水素を化学結合して成るカラムを固定相に、5乃至20ミリモル/ℓのリン酸緩衝液にオクタンスルホン酸ナトリウムを5乃至20ミリモル/ℓ溶解し、かつその水素イオン濃度をpH4乃至5に調整した水溶液を移動相に使用することを特徴とする液体クロマトグラフィによるギーアミノ酪酸分析法。

3. 発明の詳細な説明

(技術分野)

本発明は、液体クロマトグラフィによりギーアミノ酪酸を分析する方法に関する。

(従来技術)

ギーアミノ酪酸(以下GABAといふ)は血液、尿等の体液や臓器中あるいは動・植物食品中に含まれている。

従来、GABAはギーアミノ酸類と同様に陽イオン交換クロマトグラフィによる分離とOPAあるいはニンヒドリン発色による検出を組合せて分析を行っていた。

第5図は、従来法の陽イオン交換カラムを用いたGABAの分析結果を示すクロマトグラムである。本例のように、他のアミノ酸類の分離を無視して、GABAだけの測定条件を設定しても測定には約15分間を必要とする。また、この条件下他の塩基性アミノ酸が遅れて溶出するのでこれらの溶出を待って次の分析をするか、あるいはカラムの洗浄、初期化を行った後に次の分析をするので連続した分析には更に長時間を必要とする。第5図の分析条件は、カラムが内径4mm、長さ150mmの陽イオン交換カラム(Shim pack ISC-07/81504)であって55℃に温度制御されており。移動相は0.2規定くえん酸リチウム緩衝液(pH5.0)で、その流量は0.3mL/minである。検出はOPA(オルトフタルアルデヒド)を用いたポストカラム誘導体化法を用いた。

(目的)

本発明はこのような問題点に鑑みてなされたものであつて、その目的とするところはGABAを単一の移動相により確実に分離させ、もつて分析時間の短縮化を図ることができる液体クロマトグラフィによる分析方法を提案することにある。

(発明の概要)

すなわち、本発明が特徴とするところは液体クロマトグラフィ分析法であつて、シリカゲル担体に官能基として炭化水素を化学結合して成るカラムを固定相に、5乃至20ミリモル/ℓのリン酸緩衝液にオクタノンスルホン酸ナトリウムを5乃至20ミリモル/ℓ溶解し、かつその水素イオン濃度をpH4乃至5に調整した水溶液を移動相に使用し、GABAを確実・迅速に分離させるようにした点にある。

(実施例)

そこで以下に本発明の詳細を図示した実施例に基づいて説明する。

第1図は、本発明に使用する装置の一例を示す

緩衝液（水溶液）を混合したOPA反応液を収容し、反応液ポンプ6により流速0.5mℓで送液した。けい光検出器9の励起波長は348nm、けい光波長は450nmに設定した。

また恒温槽10は55℃に設定した。この状態でポンプ3より移動相を流速1mℓ/minで送液し、試料導入口2より、GABAの20μg/mℓ 0.1規定塩酸溶液を15μℓ導入して分析したところ、第2図のクロマトグラムに示すように4.7分の位置にGABAの独立したピークが検出された。第3図は第2図と同一条件で、アミノ酸標準混合液を分析したクロマトグラムである。この標準混合液は和光純薬のAN型とB型を混合したもので、生体液中に含まれるアミノ酸類37種が含まれており、GABAの濃度は5μg/mℓに調整されている。第3図のクロマトグラムはこの溶液20μℓを導入した結果であり、第3図中のGABAピークの高さが、第2図中のGABAピークの高さに等しいことよりGABAは他の36種のアミノ酸類から分離されることが明らかとなつた。第4

流路図であつて、図中符号1はシリカゲル担体に炭化水素を官能基として化学結合した固定相を充填してなるカラムで、これの一端は試料導入口2、ポンプ3を介して移動相液槽4に、他端は反応液槽5、反応液ポンプ6より成る反応液流路と合流部7で合流し、反応パイプ8（0.5mm I.Dで2000mm長のSUS製パイプ）を介してけい光検出器9に接続されている。10はカラム1と反応パイプ8を恒温に保つ恒温槽である。

このように構成された装置において、移動相液槽2に20mMリン酸ナトリウム緩衝液であつて10mMのオクタノンスルホン酸ナトリウムを含みそのpHを4.5に調整した水溶液を収容する。カラム1は内径4.0mm、長さ150mm、粒子径5μmのODSシリカゲル充てんカラム（STR-ODS柱）を使用した。反応液槽5に0.8gOPAの14mℓエタノール溶液と、0.4gポリオキシエチレンフタリルエーテルと1gのN-アセチルシスティンと980mℓのアルカリ緩衝液（0.348Mの炭酸ナトリウム、0.216Mのほう酸、0.108Mの硫

図は第2図と同一条件で緑茶抽出液中のGABAを分析したものである。なお、これら分析は15分間隔でくりかえすことができた。

つぎに、移動相中の上記リン酸緩衝液の濃度を5乃至20mMの範囲内で変更すると共に、オクタノンスルホン酸ナトリウムを5乃至20mMの範囲内で変更し、また緩衝液のpHを4乃至5に変更し、またカラムをODS、C8に変更してGABAを分析したところ良好な分離を得た。

(効果)

本発明の分析法によればGABAの分析時間の短縮化をはかることができる。

4. 図面の簡単な説明

第1図は本発明に使用する装置の一例を示す流路図であり、第2図は本発明方法によるGABA分析のクロマトグラムであり、第3図は本発明方法によるGABAを含むアミノ酸標準混合液分析のクロマトグラムであり、第4図は本発明方法による緑茶抽出液分析のクロマトグラムであり、第5図は従来例の分析方法によるGABA分析のク

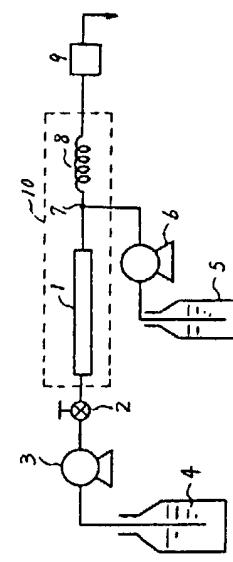
ロマトグラムである。

図中

- 1 カラム
- 4 移動相液槽
- 5 反応液槽
- 8 反応 11° 17°
- 9 けい光検出器

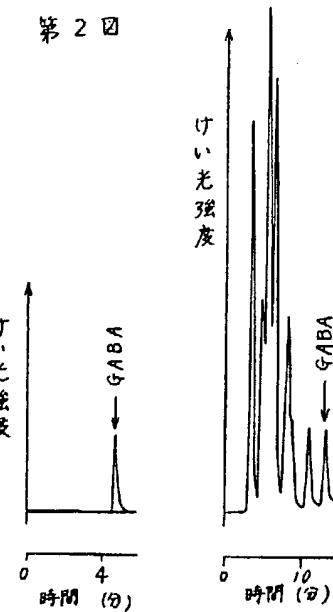
特許出願人 株式会社 島津製作所
 代理人 弁理士 武石靖彦
 印刷士

第1図

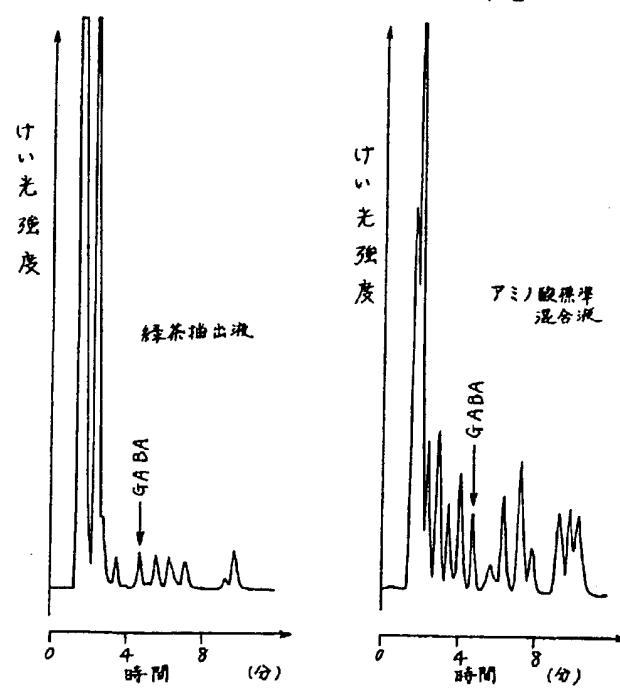


第5図

第2図



第4図



第3図